مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۳۴، شماره ۲، سال ۱۳۹۷

اثر محیط کشت پایه، تنظیم‌کننده‌های رشد و بستر کشت بر ریزازدیادی پایه گلابی نیمه‌پاکوتاه کننده پیرودوارف (Pyrodwarf)

Effects of Basal Medium, Growth Regulators and Growth Medium on Micropropagation of Semidwarf Pear Rootstock "Pyrodwarf"

عاطفه مشاری نصیرکندی[۱]، بهمن حسینی[۲]، علیرضا فرخزاد[۳] و لطفعلی ناصری[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲ و ۴- دانشیار، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳- استادیار، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲۲

چکیده

مشاری نصیرکندی، ع.، حسینی، ب.، فرخزاد، ع. ر.، و ناصری، ل. ۱۳۹۷. اثر محیط کشت پایه، تنظیم‌کننده‌های رشد و بستر کشت بر ریزازدیادی پایه گلابی نیمه‌پاکوتاه کننده پیرودوارف (Pyrodwarf). **مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۳۴:** ۱۷۰- ۱۵۳.

پایه گلابی پیرودوآرف (Pyrodwarf) از جمله پایه‌های نیمه‌پاکوتاه کننده می‌باشد که به دلیل داشتن مزایای متعدد مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بهینه‌سازی شرایط ازدیاد درون شیشه‌ای پایه گلابی پیرودوارف (Pyrodwarf) و بررسی اثر محیط‌های کشت پایه، ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر پرآوری و ریشه‌زایی این پایه انجام شد. در آزمایش اول، اثر پنج نوع محیط کشت پایه شامل: MS، 1.5MS، 2MS، WPM و B5 بر تعداد شاخه‌چه و طول شاخه‌چه بررسی شد. در آزمایش دوم اثر دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP و TDZ در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر بر صفات رویشی تعداد شاخه‌چه، طول شاخه‌چه، تعداد گره و طول میانگره بررسی شد. در آزمایش سوم اثر دو نوع محیط کشت پایه MS و ½MS تکمیل شده با دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA و NAA در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر بر صفات تعداد و طول ریشه در سه و چهار روز نگهداری در تاریکی بررسی شد. سازگاری پایه گلابی پیرودوارف در محیط‌های پرلیت درشت، پرلیت ریز، پرلیت همراه با پیت‌ماس و پیت‌ماس بررسی شد. در آزمایش اول نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که، در پایه پیرودوآرف حداکثر میزان پرآوری ۳/۷۱ شاخه‌چه به ازای ریزنمونه در محیط کشت B5 مشاهده شد. در آزمایش دوم نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که در پایه پیرودوارف، بیشترین تعداد شاخه‌چه با میانگین ۱۲/۴۴ شاخه‌چه به ازای ریزنمونه در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. در آزمایش سوم نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که، در پایه پیرودوارف، در محیط کشت ½MS نسبت به محیط کشت MS نتایج بهتری به دست آمد. حداکثر درصد ریشه‌زایی با میانگین ۱۰۰ درصد و تعداد ریشه با میانگین ۳/۰۴ در محیط کشت ½MS تکمیل شده با ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. به طور کلی در مرحله سه روز تاریکی، ریشه‌هایی با کیفیت بهتر مشاهده شد. بیشترین سازگاری و درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها در پایه گلابی پیرودوآرف در محیط پرلیت درشت به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: گلابی، ازدیاد درون شیشه‌ای، بهینه‌سازی، پرآوری، سازگاری.

نگارنده مسئول: b.hosseini@urmia.ac.ir تلفن: ۰۴۴۳۲۷۵۴۶۳۲

مقدمه

گلابی (*Pyrus communis*) یکی از میوه‌های دانه‌دار و متعلق به تیره گل‌سرخیان (Rosaceae) و زیر تیره پوموئیده (Pomoideae) است (Rom and Carlson, 1987). پایه‌های همگروه گلابی که به جنس *Pyrus* تعلق دارند شامل چهار گروه پایه‌های رویشی OH×F، BP، BU و همچنین پایه‌های Fox هستند (Campbell, 2003). از بین پایه‌های همگروه آلمان تنها پایه BU5-18 به صورت تجاری و انبوه مورد توجه می‌باشد که با نام تجاری پیرودوارف (Pyrodwarf) و نام حق انحصاری رنوس-۱ (Rhenus 1) معرفی و ثبت شده است.

این پایه از دورگ‌گیری بین رقم الدهم به عنوان والد مقاوم به بیماری آتشک و رقم لوئیزبون (Louise Bonne) به عنوان والد دهنده صفت سهل ریشه‌زایی تولید شده است (Jacob, 1998). این پایه دارای مقاومت متوسط نسبت به آتشک می‌باشد و سبب زودباردهی رقم پیوند شده بر روی آن می‌شود (Nourmohamadi *et al.*, 2015).

بهینه‌سازی و افزایش پرآوری شاخه موضوع پایه‌ای برای ریزازدیادی است و در این زمینه مطالعات زیادی بر روی نوع محیط کشت پایه و همچنین ترکیباتی که در محیط کشت استفاده می‌شوند انجام شده است. با این حال توسعه یک محیط کشت مناسب، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی مورد استفاده برای یک محصول ویژه می‌تواند کاملاً پیچیده باشد، زیرا پاسخ به محیط کشت و ترکیب تنظیم‌کننده رشد آن، اغلب وابسته به ژنوتیپ می‌باشد (Qamar *et al.*, 2015; Greenway *et al.*, 2012; Ramage and Williams, 2002).

نتایج مطالعات نشان داده است که رشد گیاه در محیط کشت با مواد غذایی زیر حد بهینه و یا غلظت بالای تنظیم‌کننده‌های رشد مختل شده و محیط کشت با مواد غذایی بهینه و غلظت مناسب تنظیم‌کننده‌های رشد منجر به رشد بهتر گیاه می‌شود (Preece, 1995). محققان گزارش کردند که در شرایط درون شیشه‌ای افزایش غلظت سیتوکینین باعث افزایش شاخه‌زایی در ارقام مختلف گلابی می‌شود (Karimpour *et al.*, 2013). محیط کشت WPM برای رشد ریزنمونه‌های استقرار یافته در پنج رقم گلابی آسیایی بهترین نتایج را به دنبال داشت که غلظت دو میلی‌گرم در لیتر BAP دارای بالاترین میزان پرآوری در پنج رقم گلابی آسیایی بود (Roozban *et al.*, 2002).

در اکثر پژوهش‌های انجام شده بیشترین میزان پرآوری شاخه در پایه‌های گلابی در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین یا بنزیل‌آمینوپورین گزارش شده است (Khodaee Chegenee *et al.*, 2011; Singha, 1982). حداکثر میزان پرآوری برای پایه گلابی پیرودوارف، در محیط QL تغییر یافته به میزان ۳/۳ شاخه‌چه به ازای ریزنمونه و

برای پایه OH×F87 در محیط QL به میزان ۵/۳ شاخه‌چه به ازای ریزنمونه گزارش شد و پس از آن محیط‌های MS، DKW و MS تغییریافته در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (Nourmohamadi *et al*., 2015).

افزودن ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4 به محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) باعث بهبود رشد شاخه‌ها شد و بهترین کیفیت در گلابی پیرودوارف در بیشترین غلظت ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4 (۲/۵MS) مشاهده شد. ترکیبات فوق بر بیشتر پاسخ‌های رشدی گیاهان و ژنوتیپ‌ها اثر مثبت می‌گذارند (Reed *et al*., 2013). نصرتی و همکاران (Nosrati *et al*., 2009)، محیط کشت MS را در مقایسه با محیط کشت QL (Quoirin and Lepoivre, 1997) به منظور ریزازدیادی و توسعه ارقام گلابی ایرانی مناسبتر گزارش نمودند. در حالی که در برخی دیگر از مطالعات انجام شده، محیط QL و QL تغییریافته (Leblay *et al*., 1991) نسبت به محیط MS واجد برتری معرفی شده است (Abdollahi *et al*., 2005; DePaoli *et al*., 1994).

محققان گزارش نموده‌اند که غلظت بهینه BA برای تولید شاخساره در *P. calleryana* ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Berardi *et al*., 1992). پژوهشگران دیگر گزارش کرده‌اند که BA با غلظت حدود دو میلی‌گرم در لیتر حداکثر تعداد شاخساره را در *P. pyrifolia* تولید می‌نماید (Kadota and Niimi, 2003). در پژوهشی برای استقرار، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی گلابی از سه محیط کشت MS، ½MS و WPM استفاده شد که محیط کشت WPM از نظر درصد شاخه‌زایی، تعداد و طول ساقه نسبت به سایر محیط کشت‌های مورد مطالعه برتری داشت، ولی بیشترین ریشه‌زایی در محیط کشت ½MS حاصل شد (Rehman *et al*., 2014). اکسین‌ها در تشکیل و طویل شدن ریشه‌ها مؤثر هستند. مناسبترین اکسین‌های ریشه‌زایی برای گلابی IBA و NAA گزارش شده است (Seyed Tabatabaei and Omidi, 2012).

تعداد ریشه‌ی نابجای تولیدی به ازاء شاخه‌چه در پایه پیرودوارف در چهار هفته روی محیط MS فاقد تنظیم‌کننده رشد و پس از شش هفته روی محیط حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. پایه‌های گلابی در محیط کشت MS همراه با یک میلی‌گرم در لیتر IBA از نظر تعداد ریشه و طول ریشه بهترین پاسخ را نشان دادند (Nourmohamadi *et al*., 2015). پژوهشگران، طی بررسی تیمار درازمدت و کوتاه‌مدت با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر IBA در چند رقم گلابی عدم توان ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها را در تیمار درازمدت گزارش کردند و در پژوهشی که روی ریشه‌زایی رقم‌های گلابی انجام دادند غلظت یک میلی‌گرم در لیتر IBA برای القای ریشه در شاخه‌ها، بهترین نتیجه

را به همراه داشت (Abdollahi *et al*., 2006).

در آزمایشی بهترین شرایط ریشه‌زایی دورگه گلابی به دو نحو تیمار طولانی‌مدت و کوتاه‌مدت غلظت‌های IBA ارزیابی شد و نتایج نشان دهنده برتری تیمار کوتاه‌مدت نسبت به تیمار بلندمدت بود و حداکثر درصد ریشه‌زایی در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد (Khodaee Chegenee *et al*., 2011). اکسین‌های IBA، IAA و NAA موجب ریشه‌زایی درون شیشه‌ای شاخساره‌های تولید شده *P. syriaca* می‌شوند و حداکثر ریشه‌زایی (۷۲ درصد) در محیط کشت MS دارای سه میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد (Shibli *et al*., 1997).

برخی پژوهشگران برای ریشه‌دار کردن شاخساره‌های تولید شده درون شیشه‌ای همگروه‌های گلابی از محیط کشت MS و QL با نصف یا یک چهارم غلظت نمک‌ها استفاده کردند (Sun *et al*., 2009).

با توجه به گسترش استفاده از روش‌های کشت بافت جهت تولید پایه‌های رویشی و نیاز به وجود دستورالعمل‌های بهینه تکثیر در شرایط درون شیشه این مطالعه به منظور بهینه‌سازی پرآوری، ریشه‌زایی و سازگاری پایه‌ی گلابی نیمه‌پاکوتاه کننده پیرودوارف (Pyrodwarf) در شرایط درون شیشه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از شاخساره‌ای گلابی پیرودوارف (Pyrodwarf) که قبلاً در محیط کشت بافت تهیه و آماده شده بودند برای پرآوری استفاده شد. این نمونه‌ها پس از برداشت از محیط کشت و حذف برگ‌ها برای کشت آماده شدند. به منظور بررسی شرایط بهینه تکثیر درون شیشه این پایه، سه آزمایش مجزا در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه از مهر ماه ۱۳۹۴ تا پایان اردیبهشت ماه ۱۳۹۵ انجام و به ترتیب اثر محیط‌های کشت پایه، نوع، غلظت و ترکیب تنظیم‌کننده رشد گیاهی و شرایط ریشه‌زایی روی پایه گلابی مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت.

آزمایش اول: بررسی اثر نوع محیط کشت پایه

در این آزمایش اثر پنج نوع محیط کشت پایه شامل MS (Murashige and Skooge)، 1.5MS (یک‌ونیم برابر سه نمک $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4)، 2MS (دو برابر نمک‌های $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4)، WPM (Woody Plant Medium) و B5 (Gamborg Medium) بر میانگین تعداد و طول شاخه‌چه پایه نیمه‌پاکوتاه کننده پیرودوارف بررسی شد.

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه ریزنمونه در هر تکرار انجام شد. در کلیه محیط‌های مورد استفاده از یک میلی‌گرم بر لیتر بنزیل‌آدنین استفاده شد. هر

شیشه کشت حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت بود که به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در دستگاه اتوکلاو استریل گردید. نمونه‌ها در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی ایجاد شده توسط لامپ‌های فلئورسنت سفید و دمای شبانه‌روزی ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. یادداشت‌برداری‌ها پس از دو ماه و دو بار واکشت و قبل از ورود شاخه‌چه‌ها به مرحله پیری و چوبی شدن انجام شد.

آزمایش دوم: بررسی اثر نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی

در این آزمایش از محیط کشت انتخابی B5، به دست آمده از آزمایش اول و دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی ۶- بنزیل آمینوپورین (BAP) و تیدیازورون (TDZ) در چهار غلظت مختلف شامل؛ صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. شاخص‌های مورد بررسی در این آزمایش شامل، میانگین تعداد و طول شاخه‌چه، میانگین تعداد گره و طول میانگره بود. یادداشت‌برداری‌ها پس از چهار هفته انجام شد.

آزمایش سوم: ارزیابی توان ریشه‌زایی

شاخه‌چه‌های ریزازدیادی شده روی محیط کشت پایه MS و ½MS حاوی دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی اسیدایندول‌بوتیریک (IBA) و اسیدنفتالین‌استیک (NAA) در چهار غلظت مختلف شامل: صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل (۴×۲×۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

بدین منظور شاخه‌چه‌های پایه گلابی در تیمارهای آزمایشی شامل MS و ½MS با غلظت‌های مختلف اسیدایندول‌بوتیریک و اسیدنفتالین‌استیک واکشت شدند. محیط کشت‌ها حاوی نمک‌های MS با ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۶ گرم آگار بود. ویتامین‌های محیط کشت شامل: تیامین، نیکوتینیک‌اسید و پیریدوکسین بود. اسیدیته کلیه محیط‌های کشت قبل از افزودن آگار در حد ۵/۷ تنظیم شد.

کلیه شاخه‌چه‌های مورد استفاده برای ریشه‌زائی به صورت جداگانه به مدت سه و چهار روز در محیط حاوی تنظیم‌کننده رشد گیاهی و در تاریکی قرار گرفتند. همزمان با آغازش کالوس‌ای تازه و سفیدرنگ در انتهای آنها، به محیط عاری از تنظیم کننده‌های رشد منتقل شدند. میانگین درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه‌چه‌ها به ازای هر ریزشاخه در محیط‌های مختلف بود. یادداشت‌برداری‌ها بر اساس شروع آغازش و رشد ریشه‌ها پس از گذشت چهار هفته انجام شد.

سازگاری

به منظور بررسی اثر نوع محیط‌های خاکی بر

استقرار مواد گیاهی در محیط خارج از شیشه، شاخه‌چه‌های گیاهی ریشه‌دار شده به صورت جداگانه به محیط‌های حاوی پرلیت درشت، پرلیت ریز، پیت ماس همراه با پرلیت و پیت ماس در اردیبهشت ماه ۱۳۹۵ منتقل شدند و در شرایط گلخانه سازگاری آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه با رطوبت ۹۰ درصد و میانگین دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. گیاهچه‌ی تولیدی تا آغاز رشد اولیه در زیر ظروف پلاستیکی شفاف و پس از آن در شرایط معمولی گلخانه سازگاری نگهداری شدند.

نتایج و بحث

اثر نوع محیط کشت پایه

مقایسه اثر نوع محیط کشت نشان داد در پایه گلابی پیرودوارف نوع محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخه‌چه داشت ولی بر طول شاخه‌چه تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر تعداد شاخه‌چه با میانگین ۳/۷۱ در محیط کشت B5 و حداقل تعداد شاخه‌چه با میانگین ۲/۱۰ در محیط کشت 2MS مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر محیط کشت پایه بر تعداد شاخه‌چه پرآوری شده در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 1. Mean comparison of the effect of basal medium on shootlet number proliferated in pear rootstock "Pyrodwarf" in *in vitro* conditions

محیط کشت Basal medium	تعداد شاخه‌چه Shootlet number
MS	2.54bc
1.5MS	2.33c
2MS	2.10c
WPM	3.40b
B5	3.71a

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

میان محیط کشت‌های MS، 1/5MS و 2MS تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ولی بین محیط کشت 2MS با WPM و B5 تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). تنوع و تفاوت در میزان پرآوری ارقام مختلف به وسیله تحقیقات قبلی گزارش شده است (Perose *et al*., 1998). این تفاوت می‌تواند به دلیل نیازهای مختلف هر رقم برای مواد معدنی، ویتامین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و سایر موارد باشد. در هر رقم تفاوت در تحریک رشد ممکن است با تفاوت در محتوای عناصر ماکرو و میکرو در ارتباط باشد (Skiada *et al*., 2010).

بنابراین نتایج به دست آمده از یک محیط کشت خاص برای یک ژنوتیپ ممکن است با نتایج به دست آمده از ژنوتیپ‌های دیگر متفاوت باشد (Lu, 2005).

نتایج تحقیقات نورمحمدی و همکاران (Nourmohammadi *et al.*, 2015) نشان داد که حداکثر میزان پرآوری برای پایه گلابی پیرودوارف در محیط کشت QL تغییر یافته به میزان ۳/۳ شاخه‌چه به ازای ریزنمونه به دست آمد. رید و همکاران (Reed *et al.*, 2013) گزارش کردند که افزودن ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4 به محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) باعث بهبود رشد شاخه‌ها شده و بهترین کیفیت در شاخه‌چه‌های تولیدی در گلابی پیرودوارف در بیشترین غلظت ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4 (2.5xMS) مشاهده شد که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

اثر نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر ریزازدیادی

مقایسه اثر تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد در پایه گلابی پیرودوارف نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی اثر معنی‌داری بر طول شاخه‌چه داشت ولی بر تعداد شاخه‌چه تأثیر معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر طول شاخه‌چه با میانگین ۲/۶۹ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی BAP و حداقل طول شاخه‌چه با میانگین ۲/۰۶ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی TDZ مشاهده شد (جدول ۲).

تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP از جمله

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر طول شاخه‌چه در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 2. Mean comparison of the effect of plant growth regulator on shootlet length in pear rootstock "Pyrodwarf" in *in vitro* condition

تنظیم‌کننده رشد گیاهی Plant growth regulator	طول شاخه‌چه (سانتی‌متر) Shootlet length (cm)
BAP	2.69a
TDZ	2.06b

میانگین‌هایی که دارای حرف متفاوت می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار دارند.

Means followed by different letter are significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

تنظیم‌کننده‌های محرک رشد و تکثیر شاخه می‌باشد و در غلظت‌های نسبتا بالای این تنظیم‌کننده رشد، رشد شاخه‌های جانبی به دلیل ذخیره شدن این تنظیم‌کننده رشد در جوانه‌های جانبی انجام می‌گیرد. غلظت‌های بالاتر سیتوکینین باعث شیشه‌ای شدن گیاهچه‌ها و تولید شاخه‌های کوتاهتر و دارای حالت جارویی می‌شود. همچنین غلظت‌های بالاتر

تولید شاخه‌های رزت می‌نمایند و نیازمند سطوح پایینتر سیتوکینین برای ایجاد شاخساره‌هایی با طول بیشتر می‌باشد (Evers *et al*., 1988).

مقایسه اثر غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP نشان داد در پایه گلابی پیرودوارف غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی اثر معنی‌داری بر تعداد و طول شاخه‌چه داشت ولی اثر متقابل نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد اثر معنی‌داری بر تعداد و طول شاخه‌چه نداشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر تعداد شاخه‌چه با میانگین ۱۲/۴۴ در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و حداقل تعداد شاخه‌چه با میانگین ۵/۵۵ در سطح صفر (شاهد) مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP بر تعداد و طول شاخه‌چه در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 3. Mean comparison of the effect of plant growth regulator BAP concentration on shootlet number and shootlet length in pear rootstock "Pyrodwarf" in *in vitro* conditions

غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی (میلی‌گرم بر لیتر) Plant growth regulator concentration (mgl^{-1})	تعداد شاخه‌چه Number of shootlet	طول شاخه‌چه (سانتی‌متر) Shootler length (cm)
0.0	5.55b	1.74b
0.5	6.88b	3.12a
1.0	12.44a	3.12a
2.0	11.99a	2.78a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

تنظیم‌کننده رشد گیاهی سیتوکینین باعث تقسیم سلولی می‌شود و به این دلیل تقسیم سلولی بیشتر باعث افزایش تعداد شاخه خواهد شد. تفاوت در سن فیزیولوژیک ریزنمونه، پاسخ‌های مختلف در بیان ژن ریزنمونه به تنظیم‌کننده رشد به‌کار رفته، سطوح داخلی تنظیم‌کننده رشد درون‌زا و سایر عوامل دخیل بر اندام‌زایی درون شیشه‌ای مؤثر می‌باشد (Evers *et al*., 1988). نتایج تحقیقات سینگا (Singha, 1984) نشان داد که حداکثر میزان پرآوری شاخه در پایه‌های گلابی در غلظت‌های یک و دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین یا بنزیل‌آمینوپورین مشاهده شد که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت.

حداکثر طول شاخه‌چه با میانگین ۳/۱۲ سانتی‌متر در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌گرم در لیتر و حداقل طول شاخه‌چه با میانگین ۱/۷۴ سانتی‌متر در سطح صفر (شاهد) مشاهده شد (جدول ۳). تحریک تولید چند برابر شاخساره با کشت ریزنمونه در محیط کشت حاوی مقادیر نسبتاً بالای سیتوکینین‌ها به دست می‌آید. نتایج تحقیقات کریم‌پور و همکاران

(Karimpour *et al.*, 2013) نشان داد که در شرایط درون شیشه‌ای افزایش غلظت سیتوکینین باعث افزایش شاخه‌زایی در ارقام گلابی می‌شود که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت.

مقایسه اثر غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی TDZ نشان داد که در پایه گلابی پیرودوارف غلظت تنظیم‌نده رشد گیاهی اثر معنی‌ری بر تعداد و طول شاخه‌چه داشت ولی اثر متقابل نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد اثر معنی‌داری بر تعداد و طول شاخساره نداشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد شاخه‌چه با میانگین ۱۰/۶۶ در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و کمترین تعداد شاخه‌چه با میانگین ۵/۵۵ در سطح صفر (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی TDZ بر تعداد و طول شاخه‌چه در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 4. Mean comparison of the effect of plant growth regulator TDZ concentration on shootlet number and shootlet length in pear rootstock “Pyrodwarf: in *in vitro* conditions

غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی (میلی‌گرم بر لیتر) Plant growth regulator concentration (mgl^{-1})	تعداد شاخه‌چه Number of shootlet	طول شاخه‌چه (سانتی‌متر) Shootlet length (cm)
0.0	5.55b	1.74b
0.5	7.33b	2.27a
1.0	10.11a	2.28a
2.0	10.66a	1.94a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.
Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan’s Multiple Range Test.

حداکثر طول شاخه‌چه با میانگین ۲/۲۸ سانتی‌متر در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و حداقل طول شاخه‌چه با میانگین ۱/۷۴ سانتی‌متر در سطح صفر (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴). سیتوکینین‌ها در غلظت بالا باعث تولید شاخه‌های متراکم می‌شوند و از طویل شدن شاخساره جلوگیری می‌کنند. هاتمن و پریس (Huetteman and Preece, 1993) نشان دادند که TDZ می‌تواند پرآوری جانبی بیشتری را نسبت به بسیاری از سیتوکینین‌های دیگر ایجاد کند با این حال TDZ ممکن است مانع طویل شدن شاخساره‌ها شود.

مقایسه اثر نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی و اثر متقابل آنها نشان داد که نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر طول میانگره اثر معنی‌داری نداشت ولی بر تعداد گره اثر معنی‌داری داشت. اثر متقابل نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر تعداد گره و طول میانگره تأثیر معنی‌داری داشت. با مقایسه میانگین اثر متقابل نوع × سطوح تنظیم‌کننده رشد گیاهی، حداکثر تعداد گره با میانگین ۱۳/۷۷ در

محیط حاوی BAP در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و حداقل تعداد گره با میانگین ۵/۹۹ در محیط حاوی TDZ در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۵). نتایج نشان داد که تولید گره و میانگره بیشتر تحت تأثیر BAP بود.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر تعداد گره و طول میانگره در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 5. Mean comparison of the interaction effect of type × concentration of plant growth regulator on node number and internode length in pear rootstock “Pyrodwarf” in *in vitro* conditions

غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی (میلی‌گرم بر لیتر) Plant growth regulator concentration (mgl^{-1})	تعداد گره Number of node	طول میانگره (سانتی‌متر) Internode length (cm)
cONTROL	6.88bc	0.25bc
BAP + 0.5	13.77a	0.22c
BAP + 1	9.55b	0.33ab
BAP + 2	9.55b	0.29abc
TDZ + 0.5	6.55bc	0.37a
TDZ + 1	8.33bc	0.30abc
TDZ + 2	5.99c	0.33ab

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan’s multiple range test.

مقایسه میانگین اثر متقابل نوع × سطوح تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد که حداکثر طول میانگره با میانگین ۰/۳۷ سانتی‌متر در TDZ در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و حداقل طول میانگره با میانگین ۰/۲۲ سانتی‌متر در BAP در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۵). نتایج سایر پژوهشگران نیز حاکی از آنست که با افزایش کاربرد BAP طول میانگره‌ها کاهش می یابد که این موضوع می‌تواند به دلیل ایجاد کالوس در انتهای ریزنمونه‌ها باشد که به نوبه خود باعث کاهش جذب مواد غذایی و آب می شود (Evers *et al.*, 1988). به دلیل اینکه آب در تقسیم سلولی نقش اساسی دارد ولی کالوس از جذب آب و مواد غذایی جلوگیری می کند.

ارزیابی توان ریشه‌زایی

درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه (سه روز تاریکی)

مقایسه اثر نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد در پایه گلابی پیرودوارف نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی اثر معنی‌داری بر درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه داشت. نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی اثر معنی‌داری بر درصد ریشه‌زایی داشت ولی تأثیر معنی‌داری بر تعداد ریشه

نداشت.

اثر متقابل نوع محیط کشت × نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی اثر معنی‌داری بر درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه داشت. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت × نوع × سطوح تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد که حداکثر درصد ریشه‌زایی با میانگین ۱۰۰ درصد در محیط کشت ½MS حاوی ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و حداقل درصد ریشه‌زایی با میانگین ۳۸/۳۳ درصد در محیط کشت MS حاوی ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد (جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت × نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 6. Mean comparison of the interaction effect of medium × type × concentration of plant growth regulator on rooting percentage and number of root in pear rootstock “Pyrodwarf” in *in vitro* conditions

محیط کشت × نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی Medium × type × concentration of plant growth regulator	درصد ریشه‌زایی (سه روز تاریکی) Rooting (%) (three days dark)	تعداد ریشه (سه روز تاریکی) Number of root (three days dark)
MS	52.66de	1.58bc
MS + 1.5 mg/l IBA	62.88cde	1.87abc
MS + 3 mg/l IBA	52.66de	1.58bc
MS + 4.5 mg/l IBA	38.33e	1.15c
MS + 1.5 mg/l NAA	59.99cde	1.80abc
MS + 3 mg/l NAA	62.66cde	1.88abc
MS + 4.5 mg/l NAA	93.66ab	2.81ab
½ MS	59.32cde	1.78abc
½ MS + 1.5 mg/l IBA	71.66abcd	2.15abc
½ MS + 3 mg/l IBA	64.66bcde	1.94abc
½ MS + 4.5 mg/l IBA	100.00a	3.04a
½ Ms + 1.5 mg/l NAA	87.99abc	2.64ab
½ MS + 3 mg/l NAA	73.32abcd	2.20abc
½ MS + 4.5 mg/l NAA	88.33abc	2.65ab

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan’s Multiple Range Test.

حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۳/۰۴ در محیط ½MS حاوی IBA در غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر و حداقل تعداد ریشه با میانگین ۱/۱۵ در محیط MS حاوی IBA در غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۶). ریشه‌ها به دلیل حساس بودن به زیادی نمک‌ها در محیط MS نسبت به محیط ½MS فاقد رشد کافی هستند و در نتیجه تعداد ریشه کافی تشکیل نشد.

ریزنمونه‌های به کار رفته در محیط ریشه‌زایی دارای مواد درونی مورد نیاز برای انگیزش و تولید ریشه به میزان کافی می‌باشند و استفاده از IBA می‌تواند یک عامل تشدید کننده یا تسریع کننده انگیزش ریشه‌زایی باشد.

این تفاوت می‌تواند بدلیل نیازهای مختلف هر رقم به مواد معدنی، ویتامین‌ها، تنظیم کننده‌های رشد و سایر موارد باشد (Skiada *et al*., 2010). محققان برای ریشه‌دار کردن شاخساره‌های تولید شده درون شیشه‌ای همگروه‌های گلابی از محیط کشت MS و QL با نصف یا یک چهارم غلظت نمک‌ها استفاده کردند (Sun *et al*., 2009).

مقایسه اثر نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد در پایه گلابی پیرودوارف نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی اثر معنی‌داری بر طول ریشه داشت. همچنین اثر متقابل نوع محیط کشت و نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر طول ریشه اثر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت × نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد که حداکثر طول ریشه با میانگین ۱/۴۲ سانتی‌متر در محیط ½MS حاوی NAA و حداقل طول ریشه با میانگین ۰/۸۷ سانتی‌متر در محیط MS حاوی IBA مشاهده شد (جدول ۷).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر طول ریشه در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 7. Mean comparison of the interaction effect of medium × plant growth regulator on root length in pear rootstock "Pyrodwarf" in *in vitro* conditions

محیط کشت × نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی Medium × type × concentration of plant growth regulator	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)
MS + IBA	0.87b
MS + NAA	1.23a
½MS + IBA	1.40a
½MS + NAA	1.42a

میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

استفاده از NAA میزان تشکیل کالوس را به میزان قابل توجهی کاهش داد که تشکیل کالوس به نوبه خود می‌تواند باعث کاهش جذب مواد غذایی و آب شود که اینها باعث کاهش رشد می‌شود. نتایج تحقیقات نورمحمدی و همکاران (Nourmohammadi *et al*., 2015) نشان داد که تعداد ریشه‌ی نابجای تولیدی به ازای شاخه‌چه در پایه پیرودوآرف در چهار هفته روی محیط MS فاقد تنظیم‌کننده رشد و پس از شش هفته روی محیط حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. پایه‌های گلابی (پیرودوآرف و OH×F87) در محیط کشت MS همراه با یک میلی‌گرم در لیتر IBA از نظر تعداد ریشه و طول ریشه بهترین پاسخ را داشتند که با

نتـایج بـه دسـت آمـده از پـژوهش حاضـر مطابقت نداشت.

درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه (چهار روز تاریکی)

مقایسه اثر نوع محیط کشت، نـوع و غلظـت تنظیم‌کننده رشـد گیـاهی نشـان داد کـه در پایـه گلابـی پیـرودوارف نـوع محـیط کشـت اثـر معنـی‌داری بـر تعـداد و طـول ریشـه داشـت. در حـالی کـه اثـر متقابـل محـیط کشـت × نـوع × غلظـت تنظیم‌کننـده رشـد گیـاهی اثـر معنـی‌داری بـر درصـد ریشـه‌زایی ریشـه داشـت. مقایسـه میانگین‌هـای اثـر متقابـل محیط کشت × نوع × سطوح تنظیم‌کننـده رشـد گیاهی نشان داد که حداکثر درصد ریشه‌زایی با میـانگین ۶۹/۵۵ درصـد در محـیط کشـت MS حـاوی سـه میلی‌گـرم در لیتـر IBA و حـداقل درصد ریشـه‌زایی بـا میـانگین ۳۶/۳۳ درصـد در محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده رشد گیاهی (شـاهد) مشـاهده شـد (جـدول ۸).

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت × نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر درصد ریشه‌زایی در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 8. Mean comparison of the interaction effect of medium × type × concentration of plant growth regulator on rooting percentage in pear rootstock “Pyrodwarf” in, *in vitro* conditions

محیط کشت × نوع × غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی Medium × type × concentration of plant growth regulator	درصد ریشه‌زایی (چهار روز تاریکی) Rooting (%) (four days dark)
MS	36.33def
MS + 1.5 mg/l IBA	37.66cdef
MS + 3 mg/l IBA	69.55a
MS + 4.5 mg/l IBA	30.99f
MS + 1.5 mg/l NAA	41.66bcdef
MS + 3 mg/l NAA	53.33bc
MS + 4.5 mg/l NAA	38.99bcdef
½ MS	47.66bcde
½ MS + 1.5 mg/l IBA	40.99bcdef
½ MS + 3 mg/l IBA	52.33bcd
½ MS + 4.5 mg/l IBA	54.66b
½ Ms + 1.5 mg/l NAA	49.66bcde
½ MS + 3 mg/l NAA	48.33bcde
½ MS + 4.5 mg/l NAA	33.33ef

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan’s Multiple Range Test.

نتـــایج تحقیقـــات شـــیبلی و همکـــاران (Shibli *et al.*, 1997) نشان داد که اکسین‌های IAA، IBA و NAA موجـب ریشـه‌زایی درون شیشه‌ای شاخسـاره‌های تولیـد شـده *P. syriaca* می‌شوند و حـداکثر ریشـه‌زایی (۷۲ درصـد) در محیط کشـت MS دارای سـه میلی‌گـرم در لیتـر

IBA صورت بدست آمد. نتایج تحقیقات خدایی‌چگنی و همکاران (Khodaee Chegenee *et al.*, 2013) نشان داد که بیشترین درصد ریشه‌زایی در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر IBA ایجاد شد که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

مقایسه میانگین اثر ساده نوع محیط کشت نشان داد که حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۱/۴۵ در محیط کشت ½MS و حداقل تعداد ریشه با میانگین ۱/۲۱ در محیط MS مشاهده شد (جدول ۹). کاهش غلظت مواد معدنی موجب کاهش پتانسیل اسمزی می‌شود به نحوی که در این شرایط جذب املاح و مواد معدنی توسط گیاه مستلزم ایجاد ریشه و تار کشنده می‌باشد (Naser *et al.*, 2010).

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر محیط کشت بر تعداد و طول ریشه در پایه گلابی پیرودوارف در شرایط درون شیشه

Table 9. Mean comparison of the effect of medium on root number and length in pear rootstock "Pyrodwarf" in *in vitro* conditions

محیط کشت Medium	تعداد ریشه Number of root	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)
MS	1.21b	0.94b
½MS	1.45a	1.18a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشابه می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

مقایسه میانگین اثر ساده نوع محیط کشت نیز حاکی در آن بود که حداکثر طول ریشه با میانگین ۱/۱۸ سانتی‌متر در محیط ½MS و حداقل طول ریشه با میانگین ۰/۹۴ سانتی‌متر در محیط MS بدست آمد (جدول ۹). ریشه‌زایی توسط عوامل مختلفی مانند وجود تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط، نمک‌های پایه، ژنوتیپ و شرایط کشت کنترل می‌شود (Evers *et al.*, 1988).

سازگاری

مقایسه اثر بستر کشت نشان داد در پایه گلابی پیرودوارف نوع بستر کشت اثر معنی‌داری بر درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها داشت. سازگاری گلابی پیرودوآرف در چهار نوع بستر شامل پرلیت با اندازه درشت، پرلیت با اندازه ریز، پیت‌ماس و ترکیب پرلیت با پیت ماس انجام شد که بین پرلیت با اندازه ریز و پیت‌ماس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی بین بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱۰).

نتایج نشان داد پرلیت درشت بهترین محیط برای سازگاری گلابی پیرودوارف است. با افزایش میزان پرلیت در بستر موفقیت برای

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثر بستر کشت بر درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها در پایه گلابی پیرودوارف
Table 10. Mean comparison of the effect growth medium on the survival (%) of seedlings in pear rootstock "Pyrodwarf"

Growth medium	بستر کشت	درصد زنده‌مانی Survival (%)
Coarse perlite	پرلیت درشت	84.27a
Fine perlite	پرلیت نرم	71.87ab
Peat moss	پیت ماس	50.00bc
Perlite + Peat moss	پرلیت + پیت ماس	25.00c

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.
Means followed by least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

سازگاری افزایش یافت. محیط پرلیت به دلیل داشتن منافذ بزرگ و کاهش پوسیدگی محیط مناسبی برای سازگاری است درحالیکه محیط پیت‌ماس و پرلیت ریز با داشتن منافذ ریز و جذب بیش از حد آب باعث پوسیدگی ریشه‌های گلابی می‌شود.

توزیع ریشه در بستر کشت می‌تواند تحت تأثیر توزیع اندازه ذرات در بستر کشت باشد. بستر کشت با ظرفیت نگهداشت آب زیاد و تهویه کم ممکن است به تجمع ریشه‌ها در بخش فوقانی ظرف بستر کشت بویژه اگر بستر کشت در قسمت ته ظرف به مدت طولانی در وضعیت اشباع باقی بماند منجر شود. رشد ریشه در بسترهای کشت با تهویه کم در مقایسه با بسترهای کشت با تهویه خوب، ضعیف، غیرشاداب و حساس به کمبود عناصر کم مصرف و مستعد به عوامل بیماریزای پوسیدگی ریشه نظیر فیتیوم (Pythium) و فیتوفترا (Phytophthora) می‌باشد (Ingram *et al.*, 2003).

نتایج این پژوهش نشان داد که محیط کشت B5 مناسبترین محیط برای پرآوری پایه گلابی پیرودوارف بود. حداکثر تعداد شاخساره، طول شاخساره و طول میانگره به ترتیب در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۵ و یک میلی‌گرم در لیتر BAP و در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ مشاهده شد. تعداد ریشه و طول ریشه در محیط کشت ½MS نسبت به محیط کشت MS تنظیم‌کننده رشد بهتر بود. IBA در غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین اثر را بر درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه و NAA بیشترین اثر را بر طول ریشه داشت. بیشترین سازگاری و درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها در پایه گلابی پیرودوارف در محیط پرلیت درشت مشاهده شد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت شرکت دانش بنیان اروم زیست تاک برای تامین گیاهچه استریل پایه گلابی پیرودوارف تشکر و قدردانی

می‌شود. از همکاری خانم مهندس آقایی مسئول و کلیه کارکنان آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه نیز سپاسگزاری می‌شود.

References

Abdollahi, H., Muleo, R., and Ruggini, E. 2005. Evaluation of different basic salts, growth regulators and pectin effects on micropropagation of pear (*Pyrus communis* L.) genotypes. Seed and Plant 21: 373-384. (in Persian).

Abdollahi, H., Muleo, R., and Rugini, E. 2006. Optimization of regeneration and maintenance of morphogenic callus in pear (*Pyrus communis* L.) by simple and double regeneration techniques. Scientia Horticulturae 108: 352-358.

Berardi, G., Infante, R., and Neri, D. 1992. Micropropagation of *Pyrus calleryana* Dcn. from seedlings. Scientia Horticulturae 53: 157-165.

Campbell, J. 2003. Pear rootstocks. AGFACTS, The State of New South Wales Agriculture, Australia. 13pp.

DePaoli, G., Rossi, V., and Scozzoli, A. 1994. Micro-propagazione delle Piante Ortoflotofrutticole. Edagricole, Bologna, Italy. 450 pp.

Evers, P. W., Donkers, J., Prat, A., and Vermeer, E. 1988. Micropropagation of forest trees through tissue culture: Pp. 98-102. In: Bonga, J. M., and Aderkas, P. (eds.). *In vitro* culture of trees. Centre for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc).

Greenway, M. B., Phillips, I. C., Lloyd, M. N., Hubstenberger, J. F., and Phillips, G. C. 2012. A nutrient medium for diverse applications and tissue growth of plant species *in vitro*. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 48: 403-410.

Huetteman, C. A., and Preece, J. E. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 33: 105-119.

Ingram, D. L., Henley, R. W., and Yeager, T. H. 1993. Growth media for container grown ornamental plant. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS. 16 pp.

Jacob, H. B. 1997. Pyrodwarf, a new clonal rootstock high density pear orchards. Acta Horticulturae 475: 169-178.

Kadota, M., and Niimi, Y. 2003. Effects of cytokinion types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in *in vitro* pear cultivars shoots. Plant Cell Tissue and Organ Culture 72: 261-265.

Karimpour, S., Davarynejad, Gh., Bagheri, A., and Tehranifar, A. 2013. *In vitro* establishment and clonal propagation of Sebri pear cultivar. Journal of Agriculture Science Technology 15: 1209-1217.

Khodaee Chegenee, F., Abdollahi, H., Ershadi, A., and Esnaashari, M. 2011. Determination of micropropagation protocol for OH×F333 and OH×F69 pear clonal rootstocks. Seed and Plant Production Journal 27: 297-312. (in Persian).

Leblay, C., Chevreau, E., and Raboin, L. M. 1991. Adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaves of several pear cultivars (*Pyrus communis* L.). Plant Cell,
Tissue and Organ Culture 25: 99-105.

Lu, M. C. 2005. Micropropagation of *Vitis thunnbergii* Sieb et Zucc., a medicinal herb, throuth high frequency shoot tip culture. Scientia Horticulturae 107: 64-69.

Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.

Naser, Sh., Ghamari Zare, A., Shahrzad, Sh., and Bakhshi Khaniki, Gh. 2010. Micropropagation of domgavi plant (*Simirnovia turkestan* Bunge). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 18: 74-82. (in Persian).

Nosrati, S. Z., Zamani, Z., and Babalar, M. 2009. Micropropagation of four cultivars (Dargazi, Natanzi, Shahmiveh and Williams) of pear (*Pyrus communis* L.). Iranian Journal of Horticultural Science 40:83-91. (in Persian)

Nourmohamadi, N., Abdollahi, H., Moini, A., and Ruholamin, E. 2015. Effects of growth media and Fe source on micropropagation and rooting of semi-dwarf pear rootstocks Pyrodwarf and OH×F87. Seed and Plant Improvement Journal 31: 265-278. (in Persian).

Peros, J. P., Torregrosa, L., and Berger, G. 1998. Variablity among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. Journal of Experimental Botany 49: 171-179.

Preece, J. 1995. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators? Plant Tissue Culture and Biotechnology 1: 26-37.

Qamar, M., Qureshi, S.T, Ahmed Khan, I.A., and Raza, S. 2015. Optimization of *in vitro* multiplication for exotic banana (*Musa* spp.) in Pakistan. African Journal of Biotechnology 14: 1989-1995.

Quoirin, M., and Lepoivre, P. 1977. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. Acta Horticulturae 78: 437-442.

Rom, R. C., and Carlson, R. F. 1987. Rootstocks for fruit crops. 1st Edition. Wiley-Interscience. 494 pp.

Ramage, C. M., and Williams, R. R. 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant 38: 116-124.

Reed, B. M., DeNoma, J., Wada, S., and Postman, J. 2013. Micropropagation of pear (*Pyrus* sp). Pp. 3-18. In: Protocols for micropropagation of selected economically important horticultural plants.

Rehman, H. U., Gill, M. I. S., Dhillon, W. S., and Bedi, S. 2014. Micropropagation of Pathernakh pear (*Pyrus pyrifolia* (Burm F.) Nakai) using explants obtained from forced cuttings. International Journal of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine 2: 54-65.

Roozban, M., Arzani, K., and Moiini, A. 2002. Study on *in vitro* propagation of some asian pear (*Pyrus serotina* Rehd) cultivars. Seed and Plant Improvement Journal 18: 348-361. (in Persian)

Seyed Tabatabaei, B., and Omidi, M. 2012. Plant cell and tissue culture. Publication of Tehran University. 367 pp. (in Persian)

Shibli, R. A., Ajlouni, M. M., Jaradat. A., Aljanabi, S., and Shatnawi, M. 1997. Micropropagation in wild pear (*Pyrus syrica*). Scientia Horticulturae 68: 237-242.

Singha, S. 1982. Influence of agar concentration on *in vitro* shoot proliferation of *Mallus* sp. Almey′ and *Pyrus communis* Seckel. American Phytopathologyical Society 107: 657-660.

Skiada, F., Grigoriadou, K., and Eleftheriou, E. P. 2010. Micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. Malagouzia and Xinomavro. Central European Journal of Biology 5: 839-852.

Sun, Q., Sun, H., and Bell, R. L. 2009. Effect of polyvinyl alcohol on *in vitro* rooting capacity of shoots in pear clones (*Pyrus communis* L.) of different ploidy. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 99: 299-304.